

F A C U L T E de M E D E C I N E de P A R I S

Année 1968

N°

866

T H E S E

pour le

DOCTORAT en MEDECINE

(Diplome d'Etat)

par

Christian BASSENNE

Né le 15 novembre 1935 à PARIS

Interne des Hopitaux de Paris

Présentée et soutenue publiquement le :

ACTION BLASTOGENIQUE EXPERIMENTALE DU BICHROMATE DE
POTASSIUM SUR LES LYMPHOCYTES PROVENANT DE SUJETS
ATTEINTS de DERMITE du CIMENT

Président M. F.-P. MERKLEN, Professeur

F A C U L T E de M E D E C I N E de P A R I S

Année 1968

N°

T H E S E

pour le

DOCTORAT en MEDECINE

(Diplome d'Etat)

par

Christian BASSENNE

Né le 15 novembre 1935 à PARIS

Interne des Hopitaux de Paris

Présentée et soutenue publiquement le :

ACTION BLASTOGENIQUE EXPERIMENTALE DU BICHROMATE DE
POTASSIUM SUR LES LYMPHOCYTES PROVENANT DE SUJETS
ATTEINTS de DERMITE du CIMENT

Président M. F.-P. MERKLEN, Professeur

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. Alaïouarine (T.), Bérard (H.), Bernard (E.) Binet (L.),
 Bulliard (H.), Cathala (J.), Chabrol (E.), Chailley-Pert (P.), Cheymol (J.),
 Debré (R.), Fey (F.), Gaillard (H.), Gaudart d'Allaines (F. de),
 Genres (L. de), Giroud (A.), Hazard (R.), Heuyer (G.) Laroche (G.),
 Lavier (G.), Lelong (M. G.), Lévy (Mlle J.), Lévy-Solal (F.), Lian (C.),
 Marchal (G.), Mathieu (P.), Monod (R.), Moreau (R.), Moulorguet (P.),
 Pasteur Vallery - Radot, Petit-Dutaillis (D.), Piédelièvre (R.), Quéru (J.),
 Renard (G.), Senéque (J.), Strohl (A.), Tanon (L.), Verne (J.), Turpin (R.)

DOYEN..... Georges PROUET
 1er ASSESSEUR..... Daniel FARGETON
 2e ASSESSEUR..... Jean GOSSET

I- PROFESSEURS

1° CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

a) Professeurs titulaires

MM.

Anatomie.....	DELMAS (A.)
-	HUARD (P.)
Anatomie et cytologie pathologiques.....	DELARUE (J.)
Anesthésiologie.....	VOURCH (G.)
Bactériologie et virologie.....	TOURNIER (P.)
Biochimie médicale.....	JAYLE (M.F.)
-	POLONOVSKI (J.)
-	DESGREZ (P.)
Biologie appliquée à l'Education physique ..	
et aux sports.....	MALMEJAC (J.)
Biologie médicale.....	FAUVERT (R.)
Biophysique médicale	BUGNARD (L.)
-	DOGNON (A.)
-	DJOURNO (A.)
Cancérologie expérimentale.....	MATHE (G.)
Chimie pathologique.....	SCHAPIRA (G.)
Génétique fondamentale.....	LEJEUNE (J.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie...	COURY (Ch.)
Histologie et Embryologie.....	TUCHMANN-DUPLESSIS (H.)
-	COUJARD (R.)
Hygiène et médecine préventive.....	BOYER (J.)
Médecine du Travail.....	DESOILLE (H.)
Médecine légale, Droit médical et déontologie..	DEROBERT (L.)
Microbiologie (Bactériologie et virologie)	FASQUELLE (R.)



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554022_0033

Parasitologie.....	N.
Pathologie chirurgicale.....	LAURENCE (G.)
- -	KUSS (R.)
- -	VERNE (J-M)
Pathologie exotique.....	BRUMPT (L- G.)
Pathologie expérimentale et comparée.....	MERKLEN (F-P.)
Pathologie médicale.....	LAROCHE (Cl.)
- -	BRICAIRE (H.)
- -	PEQUIGNOT (H.)
- -	BUGE (A.)
Pathologie respiratoire.....	TURIAF (J.)
Pathologie et thérapeutique générales.....	MAURICE (P.)
Pharmacologie.....	BOISSIER (J-R.)
-	LECHAT (P.)
Physiologie.....	BARGETON (D)
-	PARROT (J.)
Physiologie et pathologie obstétricales.....	LEPAGE (F)
Radiologie médicale.....	DESGREZ (H.)
Technique chirurgicale et chirurgie expérimentale..	N.
Thérapeutique.....	LAMOTTE (M.)
Thérapeutique appliquée.....	N.

b) Professeurs à titre personnel :

Anatomie.....	CABROL Ch.
Anatomie anthropologique.....	OLIVIER (G.)
Anatomie pathologique.....	NEZELOF (Ch.)
Bactériologie.....	BARBIER (P.)
Biochimie médicale.....	DREYFUS (J. Cl.)
Biologie médicale.....	BOURLIERE (F.)
Parasitologie.....	LARIVIERE (M.)
Pathologie expérimentale.....	LOEPER (J.)
-	(DEJOURS (P.)
Physiologie.....	(SCHERRER (J.)
-	) KELLERSHORN (L.)
Physique médicale.....	) GOUGEROT (L.)
-	) ROUCAYROL (J. Cl.)
-	) TUBIANA (M.)
Radiologie médicale.....	FISCHGOLD (H.)

2° CHAIRES de SCIENCES CLINIQUES

a) Professeurs titulaires.

Clinique carcinologique.....	DENOIX (P.)
Clinique carcinologique chirurgicale (Necker)....	REDON (H.)
Clinique cardiologique (Broussais).....	SOULIE
- - (Boucicaut).....	LENEGRE (J.)
(Beaujon.....	LORTAT - JACOB (J. L.)
(-	BAUMANN (J.)
(Cochin.....	LEGER (L.)

	MM.
Cliniques chirurgicales..... (Hotel Dieu	PATEL (J.)
(Saint-Antoine.....	GOSSET (J.)
(Alépétrière.....	SICARD (A.)
(Tenon.....	OLIVIER (Cl.)
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique..... (Cochin.....	MERLE d'AUBIGNE (R.)
(Foch.....	PADOVA. I
(Beaujon.....	CAUCHOT (J.)
Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants malades).....	FEVRE (M.)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais)...	DUBOST (Ch.)
Clinique de chirurgie thoracique (Laennec.....	METHEY (J.)
Clinique dermatologique (Saint Louis).....	DUPERRAT (F.)
Clinique endocrinologique (Pitié).....	DECOURT (J.)
Clinique de génétique médicale (Enfants Malades).....	LAMY (M.)
Clinique Chirurgicale et gynécologique (Broca).....	HUGUIER (J.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (Saint Louis).....	DEGOS (R.)
Clinique des maladies des enfants (Enfants malades)..	MOZZICONACCI (P.)
Clinique des maladies infectieuses (Claude Bernard)....	MOLLARET (P.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte Anne).....	DELAY (J.)
Clinique des maladies du sang (Broussais).....	BERNARD (J.)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)	CASTAIGNE (P.)
(Bicêtre.....	DEPARIS (M.)
(Broussais.....	MILLIEZ (P.)
(Cochin.....	N.
Cliniques médicales..... (Hotel Dieu	BARIETY (M.)
(Pitié.....	DREYFUS (G.)
(Saint Antoine.....	COMTE (M.)
(Saint Antoine.....	KOURILSKY (E.)
-S-int Antoine.....	BOUDIN (G.)
Clinique d'hydrologie et de climatologie (Bidat)	DEBRAY (Ch)
Clinique médicale infantile et pédiatrie sociale. . . (Enfants Malades).....	MARIE (J.)
Clinique médicale propédeutique (Broussais).....	JUSTIN - BESANCON (L)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies métaboliques (Hotel -Dieu).....	DEROT (M.)
Clinique néphrologique (Necker).....	HAMBURGER (J.)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié).....	DAVID (M.)
Clinique neurologique (Salpêtrière.....	GARCIN (R.)
(Baudelocque.....	LACOMME (M.)
Cliniques obstétricales..... (Saint Antoine.....	MERGER (R.)
Clinique obstétricale et gynécologique (Port Royal)...	VARANGOT (J.)
Clinique ophtalmologique (Hotel Dieu).....	OFFRET (G.)
(Cochin).....	BREGEAT (P.)
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière).....	AUBRY (M.)
Clinique de pédiatrie (Trousseau).....	N.

Clinique de pédiatrie et de puériculture (Saint-Vincent de Paul).....	THIEFFRY (S.)
Clinique de pneumo-phthisiologie (Laennec).....	BROUET (G.)
Clinique neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière).....	MICHAUX (L.)
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)	COSTE (F.)
Clinique de rhumatologie (Lariboisière).....	SEZE (S. de)
Clinique stomatologique (Salpêtrière).....	DECHAUME (M.)
Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard).....	ROUX (M.)
Clinique thérapeutique médicale (Saint Antoine).....	LEMAIRE (A.)
Clinique toxicologique (F. Widal).....	GAULTIER (M.)
Clinique traumatologique et orthopédique (R. Poincaré)	JEDET (R.)
Clinique urologique (Cochin).....	ABOULKER (P.)
- - - (Necker).....	COUVELAIRE (R.)
Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau)	LAPLANE (R.)
Séméiologie médicale (A. Cahntir).....	DOMART (A.)
- - - (Lariboisière).....	BOUVRAIN (Y.)
- - - (Pitié).....	RAMBERT (P.)
- - - (Rothschild).....	WOLFROM (R.)
Séméiologie et clinique chirurgicales (Broussais).....	POILLEUX (F.)

b) Professeur à titre personnel

	(ANDRE (R.)
Hématologie.....	(BOUSSER (J.)
Hydrologie et climatologie.....	GIBERTON (A.)
Maladies infectieuses.....	EASTIN
	(AZERAD (E.)
	(BOUR (H.)
	(CAROLI (J.)
	(DREYFUS (B.)
	(GROSSIORD (A.)
Médecine.....	(LAMBLING (A.)
	(LAUNAY (Cl.)
	(PAYET (M.)
	(PERRAULT (M.)
	(SIGUIER (F.)
	(WORMS (R.)
Néphrologie.....	RICHET (G.)
Neuro-Chirurgie.....	LE BEAU (J.)
Neurologie.....	LHERMITTE (F.)
Neuro-Psychiatrie.....	PICHOT (P.)
Oto-Rhino-Laryngologie.....	MADURO (R.)
	(POLONOWSKI (Cl.)
Pédiatrie.....	(BOYER (P.)
	(KREIS (B.)
Pneumo-Phtisiologie.....	(MEYER (A.)
Rhumatologie.....	DELBARRE (F.)

II- PROFESSEURS SANS CHAIRE

Antomie pathologique.....	GOUYGOU (Ch.)
Bactériologie.....	CHRISTOL (D.) (CARTIER(P.)
Biochimie médicale.....	(GONNARD (P.) (NORDMANN (J.)
Biologie médicale.....	HARTMANN (L.)
Chirurgie.....	DERPONNET (G.)
Hématologie.....	BILSKI-PASQUIER(G.)
Maladies infectieuses.....	DUPONT (V.)
Neuro-psychiatrie.....	TARDIEU (G.)
Pédiatrie.....	ROSSIER (A.) (COURSAGET (J.)
Physique médicale.....	(GREMY(F.)
Physiologie.....	GIRARD (Fr.)
Stomatologie.....	CHAPUT(Mme A.)

III- PROFESSEURS DETACHES DANS LES UNIVERSITES ETRANGERES

Bactériologie.....HAUDUROY (P.) Pr. s.
ch.
Pathologie chirurgicale.....

IV- PROFESSEURS ASSOCIES

Hormonologie.....	MORICARD(R.)
Statistique médicale et épidémiologie.....	SCHWARTZ(D.)

Secrétaire général de la faculté.....	M. LENA(J.)
Conseiller administratif.....	M ^{le} CHANTREUIL(G.)
Conservateur en chef de la Bibliothèque.....	(M. 1 ^{er} Docteur HAHN(A)
Conservateur du Musée d'histoire de la médecine.....	) M ^{le} DUMAITRE (P.)
Conservateurs.....	) M ^{le} LAURENT(H.)
	(M ^{le} LEI NOIR(G.)
	(M ^{me} CONTET(J.)
	(M ^{me} FORGET(F.)
	(M ^{lles} DUROZOY(M.F.)
	(ROBERGE (D.)
	(Dr SCHILLER (J.)

Par délibération en date du 9 décembre 1793, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A mon Père

A ma Mère

à qui je dois tout

A ma femme
qui supporta l'élaboration de ce travail avec
la même patience avec laquelle elle supporta
la préparation de mes concours

A mes enfants

A ma famille

A mon Maître,

Monsieur le Professeur Felix-Pierre MERKLEN
Professeur de Pathologie Expérimentale
à la Faculté de Médecine de Paris
Membre de l'Académie Nationale de Médecine
Médecin de l'Hopital Saint Louis

dont j'eus l'honneur d'être l'externe, puis
l'Interne à l'Hopital Saint Louis et l'Attaché-
Assistant depuis 4 ans au Laboratoire de
Pathologie Expérimentale

et Remerciement sincère de son enseignement
et de sa sollicitude
en témoignage de ma profonde reconnaissance
pour l'honneur qu'il m'a fait en me confiant
le sujet de cette thèse et en en acceptant
la présidence.

A mon Maître

Monsieur le Professeur Robert DEGOS
Professeur de Clinique des Maladies Cutanées
et Syphilitiques
Médecin de l'Hopital Saint Louis

dont j'ai pu apprécier l'excellence
de son enseignement et la grande bonté

A Mon Maître

Monsieur le Professeur Jacques LOEPER
Professeur de Pathologie Expérimentale
Médecin de l'Hôpital de la Pitié

en hommage à son enseignement et à sa
grande courtoisie

A mes Maitres d'In ternat

Monsieur le Docteur Daniel BOUTTIER

Monsieur le Professeur Felix-Pierre MERKLEN

Monsieur le Docteur Jean DI MATTEO

Monsieur le Docteur Abel LAFITTE

Monsieur le Docteur Gabriel VALLEE

Monsieur le Professeur Robert DEGOS

Monsieur le Professeur Pierre de GRACIANSKY

Monsieur le Professeur Jacques LOEPER

A mes maitres en Pathologie Expérimentale

Monsieur le Professeur Ag. Paul BERTHAUX

Monsieur le Professeur Ag. François COTTENOT

Monsieur le Professeur Ag. Jean-Pierre MAURAT

Monsieur le Professeur Ag. Claude MIKOL(in Mémoriam)

Monsieur le Professeur Ag. Jean PAUPE

Monsieur le Professeur Ag. Mario. RENOUX

Monsieur le Professeur Ag. Henri WARGON

A mes maitres en Dermatologie

Monsieur le Professeur Ag. René TOURAINÉ

Monsieur le Professeur Ag. Jean CIVATTE

Au Docteur Robert LECLERC

I N T R O D U C T I O N

La dermite du ciment est une des dermites professionnelles les plus fréquentes. Les constatations cliniques montrent que sa physiopathologie est complexe. Pour certains, il s'agit d'une dermatose orthoergique où s'intriquent les facteurs :

- traumatique (microtraumatismes provoqués par le travail manuel)
- toxique (en particulier l'alcalinité du ciment humide)
- et infectieux ;

Pour d'autres il s'agit d'une dermite de contact dont le mécanisme serait immunologique. En faveur de cette hypothèse sont les résultats positifs des réactions cutanées aux sels de chrome, connus depuis les travaux de JAEGER.

Nous n'avons pas l'intention de trancher entre ces deux théories, car notre étude ne repose que sur un trop petit nombre de cas. Nous avons simplement voulu vérifier le mécanisme d'action des sels de chrome en employant une technique récente d'étude in-vitro de l'hypersensibilité retardée : la culture des lymphocytes. On a en effet découvert au cours de la dernière décennie que le lymphocyte

mis en présence de l'antigène est capable de subir une transformation en cellule souche. Il était donc intéressant de chercher si les sels de chrome avaient une action blastogénique sur les lymphocytes de cimentiers et de voir s'il y avait une corrélation avec le résultat des tests cutanés.

Nous étudierons donc successivement la dermite du ciment considérée comme une dermite de contact aux sels de chrome, le rôle du lymphocyte dans la dermite de contact, la culture des lymphocytes en présence de bichromate de potassium.

C H A P I T R E -I-

DE LA DERMITE DU CIMENT CONSIDEREE COMME

une DERMITE DE CONTACT

AUX SELS de CHROME

CHAPITRE I

DE LA DERMITE DU CIMENT CONSIDEREE COMME UNE DERMITE DE CONTACT AUX SELS DE CHROME

Il y a près de vingt ans PIRILA et KILPIO (1949.) JAEGER et PELLONI (1950) montraient que la plupart des cimentiers qui souffrent d'une " gale du ciment " avaient une sensibilité cutanée aux sels de chrome hexavalent, prouvée par une positivité de la réaction épicutanée au bichromate de potassium, lue au bout de 48 heures.

Ces résultats ont été depuis confirmé par de nombreux auteurs qui ont employé des techniques diverses : épicutanées, scratch -tests, scarifications quadrillées de Pautrizel (CHANIAL, G) et même intra-dermoréactions (SOMOGYL S., LANGI G) à des concentrations variables qui expliquent en partie la variabilité des résultats positifs qui vont de 25 à 95 % suivant les auteurs.

L'étude histologique des tests a été pratiquée et a montré un infiltrat constitué de cellules mononucléées, en particulier de lymphocytes, lors des intra-dermoréactions (comme dans une réaction tuberculinique) et des images de spongiose avec exocytose lors des épicutanées comme dans la dermite de contact expérimentale au DNCB.

Ces faits semblent prouver que la dermite du ciment peut

être considérée comme une dermite de contact aux sels de chrome. Pourtant de nombreux points restent obscurs : si JAEGER trouva des traces de chrome dans les ciments (qui pouvait provenir des marnes qui servent à leur fabrication ou des appareils qui servent à les broyer) il insistait lui-même sur deux faits paradoxaux :

- la négativité des tests pratiqués avec le ciment lui-même dans près de la moitié des cas

- la disproportion entre la quantité infime de chrome trouvée dans le ciment et le seuil de positivité des tests cutanés (1 pour mille).

Les critiques furent reprises par beaucoup d'auteurs. Pourtant récemment BRUN M.R. montrait grâce à de nouvelles techniques d'analyses que la teneur du ciment en sels de chrome hexavalent était beaucoup plus forte que ce que l'on avait trouvé auparavant, en particulier dans les ciments à prise rapide de type Portland et que les tests au ciment pouvaient se révéler beaucoup plus souvent positifs si on additionnait celui-ci de sulfate de soude.

Quoiqu'il en soit on peut admettre le rôle, sinon unique du moins important du chrome dans l'étiologie d'un certain nombre de dermatites provoquées par le ciment et considérer avec CASTELLAIN P.Y. qu'il existe deux stades dans l'affection.

- un premier orthoergique dû à l'irritation caustique de la peau provoquée par le ciment alcalin.

- le deuxième allergique, par sensibilisation aux sels de chrome, point de vue qui seul nous intéressera dans cette étude.

CHAPITRE II

ROLE DU LYMPHOCYTE DANS LA DERMITE DE CONTACT

II- ROLE DU LYMPHOCYTE DANS LA DERMITE DE CONTACT

Historiquement le problème a d'abord été posé en termes anatomo-pathologiques : on décrivait d'une part des lésions intra-épidermiques faites d'un oedème dilacérant les cellules malpighiennes (spongiose) d'un envahissement de l'épiderme par des cellules mononucléées (exocytose) et de vésicules pleines de sérosité ou baignant des cellules mononucléées et d'autre part de lésions dermiques comprenant un oedème, une dilatation des vaisseaux entourés de cellules mononucléées. Pour les uns comme CIVATTE A., les lésions intra-épidermiques étaient primitives (vésiculette primordiale), pour les autres comme CHARPY, les lésions dermiques apparaissent les premières comme en témoignent des biopsies faites dans les premières heures suivant l'application de l'allergène sur la peau.

Actuellement, le mécanisme physio-pathologique de la dermatite de contact doit se poser en termes immunologiques. Mais il faut distinguer deux stades bien différents ; le premier est celui de l'induction de la sensibilisation dans lequel un nombre considérable de travaux expérimentaux tous concordants, montrent le rôle essentiel du lymphocyte : le second, celui de l'extériorisation de la sensibilisation lors du deuxième contact avec l'antigène (pendant lequel se produit les lésions décrites par les anatomo-pathologistes) et dont le mécanisme intime, est encore mal élucidé mais au cours duquel doit jouer un rôle important le petit lympho-

cyte car c'est lui qui est le support de la mémoire du premier contact comme semble le montrer sa transformation in vitro sous l'influence de l'antigène.

Le fait que l'induction de la sensibilisation et sa généralisation à tout le tégument à partir d'une surface de contact limitée est sous la dépendance du système lymphatique, a d'abord été démontré par des expériences de sections tégumentaires, STRAUS et COCA en 1937, puis LANDSTEINER et CHASE en 1940 montraient que la généralisation était empêchée par une section assez profonde pour détruire les lymphatiques et surtout FREY et WENCK en 1955 empêchaient l'induction par extirpation du ganglion correspondant à l'aire de contact.

En 1949, LANDSTEINER et CHASE apportaient une preuve majeure du rôle du lymphocyte en montrant que le transfert passif de la sensibilisation était possible d'un animal sensibilisé au trinitro-chlorobenzène à un animal neuf grâce aux lymphocytes contenus dans l'exsudat péritonéal et injectés par voie intra-veineuse. Ceci était confirmé par HAXTHAUSEN à partir des lymphocytes provenant des ganglions (1947) ou du sang circulant (1951) d'un cobaye sensibilisé.

Enfin les études histologiques récentes montrent les transformations cellulaires qui se produisent dans le ganglion au cours de l'induction de la sensibilisation de contact (identiques d'ailleurs à celles qui se produisent au même endroit du ganglion au cours du rejet de l'homogreffe (GOWANS, J.L., 1962). C'est dans la zone paracorticale du ganglion régional qu'apparaissent de grandes cellules basophiles et pyroninophiles identiques à celles qui apparaissent au cours de la culture des lymphocytes. Ensuite cette zone est peuplée de petits lymphocytes qui sont les descendants des grandes cellules souches comme le prouvent les expériences faites avec la thymidine tritiée qui ne peut être incorporée qu'au moment de la synthèse de l'ADN par les cellules mères (CORT J et TURK J.L., 1965)

On peut donc provisoirement admettre le schéma que proposait TURK J.L. en 1967 sur l'induction de la dermatite de contact. L'hypersensibilité retardée se produit lorsque l'antigène est fixé à la périphérie. Le petit lymphocyte vient donc lui-même subir la stimulation antigénique. Il suit ensuite la voie lymphatique jusqu'au ganglion régional où il trouve dans la région paracorticale le milieu favorable pour se transformer et proliférer en de nombreux petits lymphocytes porteurs d'une substance capable de réagir avec l'antigène. Dès lors le lymphocyte va circuler sans cesse dans le sens lymphe-sang circulant-ganglions, jusqu'à ce qu'il rencontre de nouveau l'antigène.

Le processus de manifestation de l'hypersensibilité au cours du

deuxième contact avec l'antigène reste par contre plus mystérieux.

Les expériences de sections tégumentaires avaient montré que le respect de la voie lymphatique n'était pas nécessaire pour obtenir cette manifestation, mais nous savons maintenant (et les cultures de lymphocytes provenant du sang circulant le prouvent) que le "petit lymphocyte mémoire" peut se trouver dans le sang périphérique.

En 1943, HAXTHAUSEN trouvait un fait très intéressant : un fragment de peau provenant d'un jumeau sensibilisé au DNCB, une fois greffé à son frère non sensibilisé, ne réagissait pas à l'application de l'antigène alors qu'un fragment de peau de celui-ci, greffé sur le sujet sensibilisé réagissait. Il en concluait faussement à l'existence d'anticorps circulants, alors que cette expérience s'explique très bien par l'existence de lymphocytes porteurs d'une substance identique à un anticorps. Cette expérience infirme d'autre part l'existence d'anticorps intra-épidermiques préexistants au deuxième contact avec l'antigène (d'ailleurs dans ce cas, la réaction serait du type immédiat et ne demanderait pas 48 heures pour se développer).

Pourtant l'existence de substances identiques à des anticorps intra-épidermiques semble prouvée par la fixation intra-épidermique d'anti-globulines fluorescentes (MERKLEN F-P.). On peut imaginer qu'elle y sont apportées par les lymphocytes circulants, attirés par l'antigène de nouveau appliqué sur la peau.

Enfin les études récentes ont mis en évidence deux phénomènes qui sont importants à considérer pour interpréter les résultats des cultures de lymphocytes.

D'une part, il est prouvé par les expériences de transfert passif de l'hypersensibilité de contact grâce à des lymphocytes marqués, que seul un très petit nombre de cellules immunologiquement compétentes sont présentes au cours de la réaction toutes les autres cellules n'intervenant semble-t-il que passivement comme lors de n'importe quelle réaction inflammatoire banale :

D'autre part on sait que les dermites de contact sont induites par des corps chimiques simples qui servent d'haptènes et qui ne deviennent réellement antigéniques qu'une fois couplés à une protéine porteuse. Alors que dans le cadre de l'immunité humorale l'haptène représente à lui seul un site antigénique, (et que de ce fait n'importe quelle protéine porteuse de cet haptène est capable de réagir avec les anticorps induits) au cours de l'hypersensibilité retardée le site antigénique comprend non seulement l'haptène mais les parties voisines de la protéine porteuse qui a permis d'induire l'hypersensibilité (BOREK, F.,

1965)

Nous ne saurions terminer ce chapitre sans évoquer d'autres problèmes que pose la dermite de contact mais qui sortent de cette étude : nous ne voulons que citer le rôle des macrophages dont on ne sait encore s'ils sont des témoins passifs de la réaction ou des acteurs comme semble le montrer par exemple l'inhibition de leur migration en culture sous l'influence de l'antigène ; et le problème des éventuels médiateurs chimiques au cours de l'hypersensibilité retardée.

CHAPITRE III

LA CULTURE DES LYMPHOCYTES IN VITRO

III- LA CULTURE DES LYMPHOCYTES IN VITRO

La culture des lymphocytes in vitro a permis de mettre en évidence un fait de biologie cellulaire, insoupçonné jusqu'à ces dernières années, et pourtant capital : la possibilité pour une cellule dite terminale de redevenir une cellule souche.

HISTORIQUE

Le lymphocyte a déjà été décrit en 1777 par HEWSON dans les ganglions lymphatiques, par VIRCHOW en 1859 dans les tissus et par EHRLICH en 1891 dans le sang. De très nombreux essais de culture de ces cellules ont été pratiqués sans succès pendant la première moitié de notre siècle. On pensait tout naturellement que la lymphopéfe se déroulait à partir du lymphoblaste vers le petit lymphocyte en passant par le grand lymphocyte et on pouvait encore lire en 1958 sous la plume de TROWELL O.A. que le petit lymphocyte était une pauvre cellule surtout caractérisée par ses aspects négatifs : petite taille, contenant très peu de cytoplasme, incapable de se multiplier, survivant quelques jours in vitro peut-être quelques semaines in vivo.

Pourtant dès 1927, MAXIMOW A.A. et BLOOM W. soutenaient la possibilité de tranformation du lymphocyte en macrophage ou en

cellule blastique, mais ces constatations étaient tellement contradictoires avec le dogme de la lymphopoïèse qu'elles restèrent méconnues.

La possibilité pour cette "pauvre cellule terminale" de se transformer en une cellule souche pluri-potentielle fut découverte grâce à un extrait de haricot rouge (*Phaseolus vulgaris*). Cet extrait était connu depuis le début du siècle puisqu'il fut utilisé en 1916 par DORSET M., HENLEY R.R. pour la préparation d'anti-sérums, et sa propriété d'agglutiner les hématies de nombreux mammifères fut bien étudié par GODDARD V.R. et MENDEL L.B. en 1929 qui en conclurent qu'il contenait une PHYTOHEMAGGLUTININE (PHA).

Entre 1940 et 1959 de nombreux travaux, en particulier ceux d'OSGOOD (1955) précisèrent les conditions optimales à réunir pour obtenir la meilleure survie des lymphocytes. En 1949, LI et OSGOOD eurent même l'idée d'employer la PHA pour séparer plus facilement les globules blancs des hématies.

Mais c'est en 1959 que des généticiens américains HUNGERFORD D.A. (1959) MOOREHEAD P.S. (1960) et NOWELL P.C. (1960) montrèrent que l'addition de PHA à des cultures de globules blancs humains entraînait l'apparition des grandes cellules de 20 à 30 μ au cytoplasme hyperbasophile, capables de se diviser. En bloquant la mitose par la colchicine, cette technique leur permit d'étudier plus facilement qu'auparavant les chromosomes humains et de mettre

ainsi en évidence le " chromosome de Philadelphie " dans la leucémie myéloïde chronique.

Ces auteurs nommèrent prudemment ces cellules des " PHA - cells ", et se demandèrent à partir de quel type de cellules sanguines elles se transformaient. Par la suite, de très nombreux travaux étudieront le mode d'action de la PHA, ses effets sur les lymphocytes provenant de sujets normaux ou atteints de processus pathologiques, enfin l'effet blastogénique, comparable qualitativement à celui de la PHA, des antigènes au cours de différents états d'immunisation.

L'EFFET BLASTOGENIQUE DE LA PHA SUR LES LYMPHOCYTES

Il faut d'abord préciser certaines conditions techniques pour pouvoir interpréter les résultats. Il n'est évidemment pas indifférent surtout sur le plan théorique, de mettre en culture soit un plasma simplement enrichi en globules blancs soit un plasma ne contenant que des lymphocytes.

Pour obtenir un plasma riche en globules blancs, il suffit de séparer les globules blancs des hématies. Ceci peut être réalisé par :

- sédimentation spontanée des globules rouges, ou centrifugation douce du sang total, techniques de routine en hématologie.

- l'emploi de la PHA (LI J.G. et OSGOOD E.E., 1949) qui

agglutinent les hématies, leur permettent de sédimenter plus vite.

- cette sédimentation peut encore être accélérée par l'addition

de gélatine (COULSON A.S., 1963) (FESTENTEN H., 1968) ou de dextran (LING N.R., 1965)

Pour séparer les lymphocytes des autres globules blancs

Il faut d'abord obtenir un plasma riche en globules blancs par l'une des techniques citées ci-dessus. Les polynucléaires et les macrophages sont éliminés ensuite en utilisant

- soit leur propriété de phagocytose: on leur fait ingérer

des particules de fer colloïdal, puis on les attire au fond du tube

par aimantation (LEVINE G., 1956) ou par centrifugation (CASSEN D., 1958)

- soit par leur propriété adhésive en faisant passer le plasma sur

de la laine de verre (BRANDT L., 1962) ou des billes de verre

(SCHREK R., et RABINOWITZ Y., 1963)

La culture proprement dite se fait, à la température de 37° en général

dans des tubes contenant le plasma autologue et du milieu synthétique 199

Mais BRODY J.A. (1965) a pu réussir des micro-cultures sur lames.

BERGMAN B., (1967) a essayé de remplacer le plasma autologue par du

dextran, du glucose ou de l'albumine. Toutes les conditions physico-

chimiques ont été bien précisées par NOWELL P.C. (1960) et par

DUTTON R.W. (1965)

Il s'agit en général de sub-culture ne dépassant pas 10 à 12 jours. Pourtant MOORE G.E. (1967) a réussi des cultures de lymphocytes humains normaux pendant plus de 3 mois en employant du milieu RMPI 1640 et du sérum de foetus de veau.

Les problèmes de lecture sont complexes. En général le culot de cellules après un certain nombre de jours de culture, est étalé et les cellules sont colorées par la méthode May Grunwald Giemen, puis un % des grandes cellules est établi, ce qui est extrêmement difficile et ne peut avoir qu'une valeur toute relative car

- Ces grandes cellules sont situées sur les bords et les franges du frottis, or il est humainement difficile et peu rentable de compter plus de mille cellules ce qui représente suivant la richesse cellulaire, quelques centimètres de la lame ou toute son étendue ; toute comparaison entre deux prélèvements est donc sujette à caution.

- entre le petit lymphocyte de 6 à 8 μ et la grande cellule hyperbasophile de 20 à 30 μ il existe toute une gamme de cellules intermédiaires (CHALMERS D.G., 1966) les auteurs ne précisent pas toujours le type de cellule qu'ils considèrent comme transformée, de sorte que pour un même agent, stimulant le pourcentage peut passer de 30 pour cent (ELVES M.W., 1963) à 3 pour cent (COWLING D.C. 1965)

- De toutes façons ce pourcentage ne peut avoir qu'une valeur relative au temps x de la culture et ne permet absolument pas de déduire quel était véritablement le nombre de lymphocytes présent dans le sang circulant susceptibles de se transformer car si l'on peut avoir une idée de la perte cellulaire au cours des différentes manipulations de séparation on ignore le pourcentage de mort cellulaire pendant la culture (estimé à 50 % au bout de 48 heures par MACKINNEY A.A., 1962)

- En définitive par cette méthode classique, l'erreur peut atteindre $\pm$ 30 pour cent LINDHAL (1963)

Plus précises sont les méthodes basées sur l'emploi de la thymidine tritiée qu'incorporent électivement les cellules qui synthétisent une grande quantité de DNA pendant leur transformation et avant leur mitose (MAC KINNEY. A.A., 1962)(BYRON, 1962) (BENDER M A., 1962) mais elles nécessitent bien sur l'emploi de compteurs à scintillation en milieu liquide.

Quels sont les résultats obtenus par cette stimulation des lymphocytes par la PHA ?

A l'état normal, à partir des lymphocytes humains la plupart des auteurs trouvent entre 40 et 70 % de transformation à la 96ème heure, ce qui fait penser que chez l'homme, environ 30 %

des lymphocytes circulants sont stimulables par la PHA ; les résultats sont identiques que ces lymphocytes proviennent :

- du sang circulant (la majorité des travaux)
- du canal , thoracique (COOPER E.H., 1963)
- de la rate (PARKHOUSE R.M.E., 1967)
- ou des amygdales (OETTGEN, H.F., 1966)

La PHA entraîne de même la transformation des lymphocytes des mammifères, qu'il s'agisse

- de singes (OHNURI T., 1962) (SANDERS , P.C., 1964)
- de lapins (SABESIN S.M., 1965)
- ou de cobayes (KNIGHT, S., 1963)

Les thymocytes ne sont pas stimulables par la PHA, du moins ceux du cobaye (OPPENHEIM, J.J., 1967)

A l'état pathologique chez l'homme, il semble que la diminution du taux de transformation des lymphocytes sous l'influence de la PHA, soit en rapport avec une diminution ou une disparition des réactions cutanées d'hypersensibilité retardée. On a en effet constaté cette diminution dans

- la leucémie lymphoïde chronique (SCHREK R., 1961) (ASTALDI G., 1965) (SHARMAN C., 1966)
- la maladie de Hodgkin (HELLMAN W.J., 1966)

- la **sarcoidose** au cours des poussées (BUCKLEY, C.E.)
- le syndrome de Gougeret - Sjogren (LEVENTHAL, B.G., 1967)
- l'ataxie téléangiectasie (OPPENHEIM, J.J., 1966)

Alors que les lymphocytes provenant de sujets agammaglobulinémiques sont stimulables normalement

Chez les cancéreux, les résultats sont variables :

PASSALEVA A(1964) trouvait une diminution de la réponse alors que ROBINSON E.(1966) ne trouvait aucune différence entre la réponse de 50 sujets normaux et 50 sujets cancéreux

Quel est le mécanisme d'action de la PHA ?

On peut affirmer que l'action blastogénique et mitogénique n'est pas liée à l'action hémagglutinante puisque cette dernière peut être éliminée par passage sur des hématies sans modifier la première. Par contre l'action leucoagglutinante semble liée à l'action mitogénique (HIRSCHHORN K, 1963)

Le temps d'exposition minimale nécessaire a été étudié par NEWSOME (1963) qui trouve que ce temps est de 5 minutes pour une concentration de 2 % alors qu'il est de plusieurs jours lorsque la PHA est à une concentration de 0,02 ou de 0,002 %. Cette étude a été reprise par HELLMAN W.J. (1966) en employant des sérums de lapin anti - PHA et par CARON G.A. (1967) qui pense que 10 secondes

d'exposition suffisent.

Quant au mécanisme lui-même, trois théories sont invoquées .

Pour certains (BECKMAN, L., 1962) (CARON, G.A., 1966)

il existerait à l'état normal un facteur plasmatique qui inhiberait la transformation des lymphocytes. La PHA lèverait cette inhibition.

En faveur de cette hypothèse, on a pu citer les résultats de JOHNSON G.J.(1965) qui trouve 30 % de transformation spontanée lorsque les lymphocytes sont cultivés dans du milieu/^{ne} contenant pas de plasma autologue. Mais le milieu contenait du sérum de veau et l'on peut se demander avec JOHNSON lui-même s'il ne s'agit pas en fait d'une stimulation due à un antigène d'histocompatibilité.

Pour d'autres il pourrait ne pas s'agir d'une réaction immunologique. La PHA agirait en lésant la membrane cellulaire et serait aussi peu spécifique que les différents facteurs qui sont capables de stimuler la division parthénogénétique de l'oeuf. GRASBECK R.(1963) en veut pour preuve l'action blastogénique non spécifique du sérum antilymphocytaire.

Pour la plupart des auteurs, la PHA agirait suivant un processus immunologique : ce serait un antigène ubiquitaire. LYCETTE R.R. (1963) démontrèrent que l'injection de PHA en intradermoréaction à 7 volontaires provoquait une réaction cutanée de type immédiat.

C'est d'ailleurs en partant de cette idée que la stimulation de la PHA était bien immunologique, qu'il s'agissait bien d'une stimulation antigénique que SCHRECK R(1963) en Amérique et PERMAIN G(1963) en Angleterre eurent l'idée de vérifier si un antigène connu comme la

tuberculine avait la même propriété que la PHA.

ACTION BLASTOGENIQUE DES ANTIGENES

Le premier antigène étudié fut donc la tuberculine. Les constatations de PERMAIN G. furent vérifiées par COWLING D.G. (1963) LING N.R. (1964) CARON G.A. (1966) et HEILMAN D.H. (1966) qui étudient les polysaccharides constituant la tuberculine. Tous sont d'accord pour trouver des taux de transformation bien moindre qu'avec la PHA : COWLING trouve au bout de 7 jours de culture 90 % de transformation avec la PHA, 20 % seulement avec la tuberculine. La corrélation des résultats positifs des cultures avec ceux des réactions cutanées liées au bout de 48 heures est parfaite.

Le fait est vérifié chez le cobaye sensibilisé par ASPEGREN N. en 1964 et ZWEIMAN B. en 1966.

Les allergènes microbiens (autres que la tuberculine) ou viraux ont aussi été étudiés mais dans l'ensemble les résultats prêtent plus à discussion.

Chez les sujets vaccinés LYCETTE P.R. (1963) et ELVES (1963) trouvent 30 % de transformation dans les cultures en présence des vaccins. Anti-tétanique, anti-typhique, anti-coquelucheux et anti-poliomyélitique COWLING D.C. (1965) confirme les résultats avec la toxine diphtérique et le vaccin typhique mais ne trouve que 3 à 6 % de transformation. Alors que ces différents vaccins ne donnent pas de transformation des lymphocytes des sujets qui n'ont pas été vaccinés ou qui n'ont pas présenté la maladie.

Par contre le filtrat staphylococcique (LING N.R., 1965) transforme: en 4 jours 80 % des lymphocytes de tous les sujets normaux. Il s'agit alors d'une action non spécifique, identique à celle de la PHA. Il en est de même pour la streptolysine S(LING N.R., 1964). Alors que la streptolysine O (HIRSHHORN K, 1964) et la protéine M KY N.T. et HALPERN B.N.(1966) ne donnent des résultats positifs qu'avec des lymphocytes provenant de sujets allergiques au streptocoque et sont sans effet sur les lymphocytes des sujets normaux.

L'allergie médicamenteuse a aussi été étudiée à l'aide de cette technique. Les premiers médicaments testés avec succès furent la pénicilline par HIRSHHORN K(1963) et la phénytoïne par HOLLAND P. (1964). Mais dans l'ensemble les auteurs anglo-saxons (RIPPS C.S., VISCHER T.L. SARKANY I.) ne purent mettre en évidence le rôle d'un médicament dans un accident d'hypersensibilité que dans un petit nombre de cas. C'est ainsi que sur 40 malades étudiés, pouvant avoir fait un ou des accidents sous l'influence de 22 drogues SARKANY I. qui emploie la thymidine tritiée pour les lectures ne trouve le test que 7 fois positif. HALPERN B.N. au contraire, en France où il introduisit le premier la méthode, trouve 100 % de résultats positifs avec l'aspirine et la pénicilline.

L'allergie au pollen donne aussi des résultats spécifiques

LYCETTE R.R. (1963) ZEITZ S.J. (1966) et NOVI C (1966)

Dans le cadre des maladies auto-immunes HASHEM N. (1963) étudia l'action d'extraits de lymphocytes autologues et de vaccin anti-rabbique utilisé comme extrait de système nerveux dans l'encéphalite, le syndrome de Guillain Baré et dans la sclérose en plaques. Ses résultats furent repris par FOWLER I en 1966.

HASHEM N. (1966) trouva que les extraits de peau autologue transformaient les lymphocytes provenant de sujets atteints d'eczéma atopique.

Enfin citons l'action de la thyroglobuline sur les lymphocytes provenant de sujets atteints de thyroïdite d'Hashimoto, étudiée par FORBES I.J. (1965) qui montra la sécrétion d'Anticorps antithyroglobuline sous l'influence de la PHA. ROITT I.M. (1967) ne trouva par contre aucune transformation sous l'influence de la thyroglobuline alors que ZAVALITA A (1967) put en montrer chez des lapins chez qui il avait réalisé une thyroïdite expérimentale.

Citons encore l'action de l'ADN sur les lymphocytes du lupus érythémateux disséminé (PATRUCCO, 1967)

La culture des lymphocytes a permis aussi d'aborder l'étude de l'histocompatibilité par la constatation que le mélange de lymphocytes provenant de 2 sujets homologues entraînait une transformation d'une partie des deux sortes de lymphocytes. Ce fait fut découvert par

BAIN B. (1963) et largement confirmé depuis par HIRSCHHORN K(1964) SCHRECK R(1964) et DUTTON R.W. (1966). Les extraits de lymphocytes tués ont la même action que les lymphocytes vivants HASHEM N(1960) et VIZA D.C. (1967) précise que c'est la fraction ribosomale de ces cellules qui serait active.

Dans le cadre de l'histocompatibilité, il faut encore citer l'action d'extraits de peau homologue (HASHEM N., 1966) et celle des protéines hétérologues comme le sérum de veau (JOHNSON G.J., 1965)

SIGNIFICATION DE LA TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE

Nous venons de voir que l'on obtenait une transformation lymphoblastique au cours des cultures des globules blancs de mammifères sous l'influence de divers stimuli qui ne semblent pas avoir beaucoup de liens de parenté entre eux. Avant d'esquisser une réponse à la question de la signification de cette transformation nous devons nous demander d'où proviennent les grandes cellules basophiles et quelles sont leurs caractéristiques cellulaires.

Les grandes cellules basophiles (immunoblastes) semblent provenir des petits lymphocytes

Cette affirmation repose sur un faisceau d'arguments mais sans preuve strictement formelle.

Les premières cultures (NOWELL 1966) étaient pratiquées avec

un plasma riche en globules blancs : les immunoblastes pouvaient provenir à priori aussi bien des polynucléaires, des macrophages circulants (monocytes) que des lymphocytes.

Mais ensuite on a pratiqué des cultures contenant une grande majorité de lymphocytes soit en utilisant les techniques de séparation que nous avons vues, soit en partant du contenu du canal thoracique qui contient chez l'homme 85 à 98 % de petits lymphocytes (COOPER E.H., 1963)

Un argument supplémentaire est fourni par le fait que la disparition des petits lymphocytes dans la culture correspond avec l'apparition des immunoblastes (ELVES, 1963 Exper. Cell. Res) et (BERMAN L, 1962) Cet argument est d'ailleurs discutable (DUTTON R.W., 1966) car la disparition des lymphocytes peut aussi bien signifier leur mort que leur transformation. DUTTON fait remarquer aussi que la constatation de 50 % de cellules basophiles, à la 72ème heure après stimulation par la PHA, peut s'expliquer aussi bien par la transformation de la population la plus importante de la culture (les petits lymphocytes) que par une multiplication très rapide de cellules en très petit nombre au temps zéro (les monocytes par exemple). Mais SASAKI M. S. (1966) a montré grâce à l'incorporation de thymidine tritiée et d'autoradiographies que la durée d'un cycle cellulaire de ces immunoblastes étaient de 22 heures et qu'à la 72 ème heure on était en présence de cellules de seconde génération seulement.

Un dernier argument de l'origine lymphocytaire des immunoblastes est tiré des expériences de transformation in vivo : si on injecte en intra-dermique des petits lymphocytes provenant d'un des parents, à un hybride F_1 on retrouve au bout d'un certain temps des grandes cellules identiques à celles trouvées en culture (GOWANS J.). Si ces petits lymphocytes sont marqués par la thymidine les grandes cellules le sont aussi. On peut même prouver que ce sont bien les petits lymphocytes du donneur qui se sont transformés et non ceux du receveur qui auraient adsorbé la thymidine, en injectant des cellules d'un mâle à une femelle et en faisant une étude autoradiographique des chromosomes (PORTER K.A., 1963)

Différentes techniques ont permis de préciser les modalités de la transformation et les caractéristiques principales des immunoblastes

L'emploi des marqueurs spécifiques de l'ARN et de l'ADN ont ainsi montré que l'incorporation d'uridine tritiée (c'est à dire la synthèse de l'ARN) commençait presque immédiatement après le début de la culture (GRASBECK R., (1963) COOPER H. L., (1965) HELLSTROM K.E. (1965) Cette synthèse précède celle de l'ADN de 24 heures (EPSTEIN L.B. (1964). La synthèse de l'ADN précède la mitose proprement dite. La durée du cycle cellulaire (intervalle entre deux mitoses) est de 22 heures. Les études histochimiques (GOUGH J., 1966) ont montré de même cette

augmentation de la synthèse de l'ARN, des protéines et du glycogène, alors que cette augmentation n'était pas retrouvée dans les macrophages.

La microscopie électronique a montré que les immunoblastes ne possédaient pas les structures classiquement nécessaires à la synthèse des protéines : le réticulum endoplasmique est peu développé (INMAN D.R. 1963). Pourtant l'immunofluorescence a montré qu'elles contenaient des substances identiques à des anticorps (ELVES M.W. 1963). De nombreux auteurs ont pu aussi montrer la sécrétion d'anticorps par ces cellules, in vitro, après stimulation par la PHA : anticorps sécrétés par des lymphocytes provenant de ganglions de lapins (TAO, R.W., 1966) ou de poulets immunisés (MIYAMOTO T., 1966) ou d'anticorps anti-thyroglobuline sécrétés par des lymphocytes provenant de sujets atteints de thyroïdite d'Hashimoto (FORBES, 1965)

La transformation blastoïde des lymphocytes semble donc bien une réaction immunologique

Mais reste à savoir qu'il s'agit d'une réaction primaire ou secondaire si elle est caractéristique de l'immunité humorale ou retardée ?

L'action de la PHA, de l'extrait de *Phytolacca Americana* (FARNES P., 1964), du sérum antilymphocytaire, des lymphocytes allogéniques peut être considérée, comme une réaction primaire puisque elle s'exerce sur des lymphocytes provenant de sujets qui n'ont pas été antérieurement en contact avec ces substances.

Par contre l'action de la tuberculine et des autres antigènes microbiens, viraux ou médicamenteux ont une réaction secondaire anamnétique puisque ces substances sont sans action sur les lymphocytes des sujets normaux non sensibilisés.

Quant à savoir si la réaction ne se voit qu'au cours d'une immunisation de type humoral ou de type retardé, la discussion est ouverte mais elle paraît être positive dans les deux cas.

En clinique humaine, la réaction est positive dans l'hypersensibilité retardée (tuberculine, allergie microbienne) mais aussi au cours d'allergie humorale (pollen, certains accidents anaphylactiques provoqués par des médicaments).

Expérimentalement, les résultats sont contradictoires. MILLS J.A. (1966) pense que la transformation blastique ne se voit qu'au cours de l'hypersensibilité retardée : les lymphocytes provenant de cobayes sensibilisés avec une protéine conjuguée ne se transformeraient in vitro sous l'influence de cette protéine que si elle avait été injectée dans le coussinet des pattes, mélangée à l'adjuvant complet de Freund (provoquant ainsi un état d'hypersensibilité retardée prouvé

par des intradermoréactions positives au bout de 48 heures) alors qu'elle n'avait aucune action blastogénique si elle avait été injectée par voie intraveineuse (ayant entraîné l'apparition d'anticorps circulants). Par contre du sérum de mouton antiglobuline rouges de lapin entraîne une transformation des lymphocytes de lapin (SELL S. 1967) mais il s'agit d'un système hétérologue.

Une dernière question se pose : l'antigène agit-il directement sur les lymphocytes ? Les Constatations d'OPPENHEIM J.J. (1966) semble le controuver : l'antigène marqué au ^{14}C ne se retrouve que dans les macrophages tandis que parallèlement on observait une prolifération et une transformation des lymphocytes. Les macrophages joueraient-ils un rôle d'intermédiaire dans la réaction in vitro comme ils le jouent peut-être in vivo ? La question n'est pas tranchée.

Après cette revue générale de problèmes que pose la culture des lymphocytes nous allons donner les résultats que nous avons obtenus avec le bichromate de potassium dans la dermite des cimentiers sensibilisés au chrome.

CHAPITRE IV

LA CULTURE DES LYMPHOCYTES DANS LA DERMITE DU CIMENT

IV- LA CULTURE DES LYMPHOCYTES DANS LA DERMITE

DU CIMENT

GROSFELD J.M.C. (1966) fut le premier à étudier l'éventuelle action blastogénique du bichromate de potassium sur les lymphocytes provenant de sujets sensibilisés aux sels de chrome. Il trouva chez 5 sujets entre 3,5 et 6,5 pour cent de transformation, mais il utilisait comme technique de séparation celle d'OSGOOD, de sorte que la présence de PHA entraînait un certain taux de transformation dans les tubes témoins.

Nous reprîmes donc cette étude en employant la technique de séparation de BRANDT L., décrite en France par HALPERN B et que nous avons légèrement modifiée.

Le sang est prélevé, le matin sur le sujet à jeun, au moyen d'une tubulure en plastique comportant une aiguille à chaque extrémité l'une introduite dans la veine du pli du coude après désinfection soigneuse de la région, l'autre traversant une capsule de papier argenté placée avant stérilisation sur le goulot d'un flacon de verre d'une contenance de 125 ml. Un cc d'héparine est employé pour 60 ml de sang. Celui-ci fut conservé à la température ordinaire jusqu'au début de l'après midi où il fut technique. Il est certain que ce laps de temps de 3 à 5 heures entre le prélèvement et le début de

la sédimentation fut dans l'ensemble néfaste et entraîna un certain pourcentage de lyse cellulaire, par contre les résultats ne furent pas influencés par la température à laquelle le sang fut conservé (+ 37° ou +4°).

Au laboratoire, les flacons sont agités doucement puis le sang est réparti dans des tubes à essai placés à l'étuve à une température de 37° et inclinés à 45° pour obtenir une meilleure sédimentation spontanée des globules rouges, le temps de sédimentation dont on peut avoir une idée à l'avance si on connaît la vitesse de sédimentation du sujet, a varié entre 30 minutes et une heure et demi, l'expérience ayant montré que la sédimentation optimale (c'est à dire celle qui ne laisse que 5 à 10 % d'hématies et qui ne fait pas perdre plus de 10 à 20 % de globules blancs) était réalisée lorsque la phase plasmatique n'était plus rose.

Le plasma est alors pipeté doucement : on a alors obtenu un plasma enrichi en globules blancs.

Pour séparer les cellules mononucléées des polynucléaires on fait passer ce plasma sur de la laine de verre sur laquelle les polynucléaires vont adhérer. La colonne de filtration est constituée par un tube d'Allihn de porosité n° 2, dans lequel on tasse 2 à 3 grammes de laine de verre soigneusement lavée puis séchée. L'extrémité supérieure du tube est obturée par un bouchon percé d'un orifice,

par lequel passe un petit tube de verre obturé par du coton.

L'extrémité inférieure du tube traverse l'orifice d'un bouchon qui obture un gros tube de verre qui recueille le filtrat. Le plasma est versé par l'extrémité supérieure, par petites fractions de 5 ml environ que l'on laisse au contact de la laine de verre pendant 10 minutes.

Chaque fraction fait passer la précédente dans le tube inférieur la dernière est éluée par du milieu 199.

On a alors obtenu un plasma contenant 5 à 10 % d'hématies, 80 à 90 % de lymphocytes, le reste des cellules étant constitué par quelques monocytes et des polynucléaires dont curieusement les éosinophiles.

Il faut alors ajouter le milieu de culture constitué par du milieu 199 de PARKER dans la proportion 1/3 de plasma autologue pour 2/3 de milieu. Cette condition semble plus importante que la concentration cellulaire qui doit être classiquement, depuis les travaux d'OSGOOD comprise entre 1.000.000 et 2.000.000/ml (ce qui est rarement le cas) il suffit d'ajuster en ajoutant du milieu. Si elle est inférieure à 1.000.000/ml (ce qui est relativement fréquent, la perte cellulaire due aux fréquentes manipulations pouvant atteindre 50 pour cent), la culture se fait quand même dans de bonnes conditions. Alors que si l'on a voulu respecter la concentration cellulaire classique en faisant

une numération avant de rajouter le milieu et que les calculs ont indiqué par exemple de n'ajouter qu'une part de milieu pour une part de plasma, on obtient alors au fond des tubes un culot fibrinoïde qui enserre les cellules et en empêche, si ce n'est la survie, du moins l'étalement et la lecture.

Le mélange plasma autologue - milieu synthétique est alors réparti par fractions de 3 ml dans des tubes à essai numérotés contenant :

N°1 - rien (blanc)

N°2 - uniquement les antibiotiques (50 gammas de streptomycine
et 100 unités de pénicilline 6 / cc

N°3 - PHA DIFCO M (1/10 de ml de la solution mère diluée au
1/10) (la solution mère étant obtenue par addition de 5 ml
de milieu 199 à la poudre commerciale lyophilisée ; celles-ci
ne sera pas conservée plus de 8 jours à + 4°)

N°4 - 1/10 de ml d'une solution de bichromate de potassium à la
concentration de 1/1.000.000

Les tubes n° 3 et 4 contiennent la même concentration en antibiotique que le tube n° 2

Les tubes sont laissés à l'étude à la température de 37°
pendant 96 heures.

Au bout de cet intervalle de temps, les cellules ont sédimenté. et ont formé un culot au fond du tube. Le surnageant est pipeté et rejeté. Les cellules sont délicatement remises en suspension dans une goutte de milieu grâce à une pipette Pasteur puis un frottis est réalisé et coloré par la méthode classique de May Grundwald Giemsa

La lecture se fait à l'objectif à immersion (grossissement 1000) il n'a été tenu uniquement compte que des immunoblastes, dont le pourcentage est donné par rapport aux cellules lymphoïdes à l'exclusion des autres.

Les immunoblastes sont de grandes cellules dont le diamètre est compris entre 20 et 30 μ , le cytoplasme est basophile et vacuolisé, le noyau comporte une chromatine finement réticulée et plusieurs nucléoles. Nous n'avons pas tenu compte des cellules intermédiaires car dans les tubes témoins nous n'avons trouvé au bout de 4 jours de culture jamais plus de 50 % de lymphocytes absolument pas transformées. Les autres avaient tous subi une augmentation de taille et leurs noyaux comportaient parfois 1 ou 2 nucléoles ce qui les rend très difficiles à distinguer des cellules filles provenant de la division des grandes cellules.

Quarante prélèvements ont ainsi été étudiés, provenant de 17 cimentiers, 5 sujets sensibilisés aux sels de chrome et 18 témoins.

Il s'agissait de :

- 10 cimentiers présentant cliniquement une "gale du ciment" authentique; c'est à dire des lésions érythémato-vésiculeuses ayant débuté dans les régions péri-unguéales et s'étant étendues au dos des doigts de la main et plus ou moins loin sur les avant-bras, la paume de la main étant respectée. 9 d'entre eux avaient des tests positifs au bichromate de potassium à la concentration de 0,5 %. Le 10ème qui avait des tests négatifs était en AT depuis 2 ans et on pouvait se demander s'il ne s'agissait pas de lésions auto-entretenues.

5 sujets présentant un eczéma du dos des mains et ayant des tests cutanés positifs au chrome et à l'eau de Javel s'étaient sensibilisés aux sels de chrome soit en travaillant au chromage de pièces métalliques soit au nettoyage de celles-ci par des acides, soit par un contact avec l'eau de Javel qu'ils utilisaient dans leur métier de garçon de café.

Nos 25 témoins comprennent :

7 cimentiers dont l'un était exempt de toute lésion cutanée, 3 avaient un eczéma infectieux (atteignant les plus ou la face sans atteinte des régions exposées) 2 un psoriasis et le dernier une kératodermie palmo-plantaire dont la biopsie, les tests cutanés et la culture des lymphocytes

affirmèrent l'origine trichophitique

- 18 sujets témoins étaient : 1 psoriasique, 3 eczémateux, 4 allergiques à la pénicilline et 10 exempts de lésions cutanées

Les résultats sont consignés dans les tableaux suivants

CIMENTIERS présentant une dermite du ciment cliniquement authentique

N°	Noms	Age	Durée contact	Ancienneté eczéma	Tests cutanés				T T L			
					BCK	J	Ni	Co	1	2	3	4
1	DAR..	34	?	?	++			+	0,2	0,5	52	6
2	BEN..	37	?	?	+++	++	+		0,1	0,1	50	5
3	MOU..	28	?	?	+++	+	-	-	0,3	0,2	35	3,5
4	RAM..	67		nouvelle poussée	+				L	L	L	L
5	BEL..	30	AT 2 ans		-	-	-	-	0,2	0,1	45	0,0
6	DAL..	34	20 ans	6 mois	+++	+	-	-	0,3	0,2	50	3,5
7	LAM..	35	eczéma il y a 6 ans	pas de contact récent	+++				0,1	0,1	35	0,2
8	MIR..	30	17 ans	2 mois	++	-	-	-	0,3	0,2	57	4%
9	GOU..	30	15 ans	1 an	+				L	L	L	L
10	BER..	26	5 ans	2 ans	+				0%	0,1	55	0,0

BCK = Bichromate de potassium

J = Eau de Javel

Ni = Sulfate de Nickel

Co = Sulfate de Cobalt

T T L = Test de Transformation
des lymphocytes (HALPERN)

1 = Blanc

2 = Antibiotiques

3 = PHA

4 = Bichromate de potassium

L = Lyse

Malades présentant une dermite au chrome
sans contact avec le ciment

N°	Noms	Age	Métier	Tests cutanés				T T L			
				BCK	J	Ni	Co	1	2	3	4
1	ALL.	25	Chromage pièces métalliques	+	+	-	-	L	L	L	L
2	HAM	50	garçon café	+	+	-	-	L	L	L	L
3	PER	24	nettoyage pièces métalliques	+++	+++	-	+++	0,1	0,1	12	0,3
4	LOR	65	Contact Javel	+++	++	-	-	0,0	0,1	77	5
5	MEY	33	garçon café	+++	++	-	-	0,1	0,0	L	3,5

Cimentiers témoins

N°	Noms	Age	Lésions	Tests cutanés					T T L			
				BCK	J	Ni	Co	*	1	2	3	4
1	COR	65	eczémas infectieux	-	-	-	-		0,2	0,2	25	0,5
2	LEG	20	néant	-	-	-	-		0,1	0,3	54	0,1
3	MOU	50	psoriasis	-	-	-	-		0,0	0,0	58	0,0
4	BER	67	psoriasis	-	-				0,1	0,2	L	0,1
5	NOE	61	eczéma infectieux	-	-	-	-		0,2	0,2	L	0,5
6	GRE	39	eczéma aigu face	?	?	?	?		0,0	0,1	71	0,1
7	CHA	30	kératose apalmo-plantaire	-	-	-	-	+++	0,1	0,0	15	0,0

* trichophytine

Témoins non cimentiers

N°	Nom	Age	Lésions	Tests cutanés				T T L % transformation			
				ECK	J	Ni	Co *	1	2	3	4
8	BER	47	eczéma	-	-	-	- +++	0,3	0,2	L	0,1
9	LEO	35	eczéma	-	-	-	-	3,5	4	78	4
10	ULI	67	eczéma	-	-	-	-	1	1,2	15	0,8
11	HEU	48	psoriasis	?	?	?	?	0,0	0,1	5	0,1
12	FRA	72	all. péni	-	-	-	-	2	2	65	2,2
13	RAS	40	all. péni	?	?	?	?	0,1	0,0	40	0,0
14	SEL	68	all. péni	-	-	-	-	0,0	0,2	60	0,0
15	BEL	22	all. péni	?	?	?	?	0,0	0,1	45	0,4
16	BER	58	néant	-	-	-	-	0,2	0,0	58	0,2
17	NR	75	"	/	/	/	/	0,0	0,0	L	0,2
18	MAI	60	"	/	/	/	/	0,0	0,1	50	0,1
19	GAL	58	"	/	/	/	/	0,1	0,0	42	0,5
20	MEU	65	"	/	/	/	/	L	L	L	L
21	MAS	55	"	/	/	/	/	0,2	0,3	60	0,1
22	DEN	81	"	/	/	/	/	0,3	0,0	52	0,2
23	DES	62	"	/	/	/	/	0,0	0,0	63	0,0
24	LAT	71	"	/	/	/	/	0,3	0,3	57	0,0
25	DES	70	"	/	/	/	/	0,1	0,5	45	0,2

* para phenylenediamine

Les neuf derniers sujets normaux, exempts de lésions cutanées n'ont pas été testés au point de vue cutané

RESULTATS et DISCUSSION

A partir de 40 prélèvements, 34 cultures seulement ont pu être menées à leur terme. Les 6 lyses cellulaires (L) sont vraisemblablement dues à une souillure d'origine bactérienne ou virale.

Dans les tubes témoins ne contenant que le mélange plasma riche en lymphocytes-milieu synthétique avec (tube 2) ou sans antibiotiques (tube 1) nous n'avons jamais constaté plus de 0,5 % de transformation sauf avec les lymphocytes provenant des témoins n° 9, 10 et 12. Il ne s'agit pas d'une allergie aux antibiotiques puisque le pourcentage de transformation est identique dans les tubes 1 et 2. Il est possible qu'il s'agisse d'une stimulation non spécifique d'origine bactérienne n'ayant pas entraîné de lyse.

Chez les 25 témoins, nous n'avons jamais constaté plus de 0,5 % de transformation en présence de bichromate de potassium ; sauf évidemment avec les lymphocytes des sujets n° 9, 10 et 12 puisqu'ils se transformaient aussi en l'absence d'antigène.

On peut donc affirmer l'absence de stimulation non spécifique de bichromate de potassium sur les lymphocytes normaux

Au contraire le bichromate de potassium a entraîné une transformation comprise entre 3,5 et 6 % des lymphocytes provenant de sujets

présentant une dermite de contact, provoqué par le chrome contenu dans le ciment ou dans d'autres produits.

Les résultats de la culture des lymphocytes in vitro nous paraissent parallèles aux résultats obtenus avec les tests cutanés. Ainsi, si nous considérons l'ensemble des 24 sujets testés par réactions épicutanées les résultats ont été concordants 21 fois.

Deux points restent à discuter, le premier est le taux très bas de transformation, comparé à celui obtenu avec la PHA (environ dix fois moins). Il est identique à celui trouvé avec d'autres antigènes (tuberculine, pollen, médicaments). Nous avons vu qu'in vivo seul un petit nombre de cellules spécifiquement actives sont présentes, les autres sont attirées passivement.

Le deuxième point mérite une discussion : le fait qu'un haptène comme le bichromate de potassium puisse agir sur le lymphocyte . En effet nous avons vu dans un chapitre précédent que le site antigénique , au cours de l'hypersensibilité retardée, comprenait non seulement l'haptène mais la zone voisine de la protéine porteuse. Il semble que dans notre milieu de culture, le bichromate de potassium ne puisse réagir qu'avec une protéine de sérum.

S'il est vrai qu'au cours de l'hypersensibilité retardée, la spécificité de la protéine porteuse de l'haptène est étroite, nous pouvons conclure de nos résultats :

- soit qu'ils sont le fruit d'une coïncidence
- soit qu'in vivo le bichromate de potassium se conjugue à une protéine sérique et non à une protéine épidermique comme on le pensait

En faveur de cette hypothèse, nous citerons les résultats expérimentaux de COHEN H.A. (1966) qui a réussi à reproduire une dermite de contact au bichromate de potassium chez le cobaye en l'injectant par voie intra-dermique, associé à de l'héparine. L'injection isolée de bichromate ne donne aucun résultat. L'héparine sert-elle de protéine porteuse ou au contraire provoque-t-elle une hémorragie localisée qui permet à l'haptène de se lier à une protéine sérique ? Ajoutons que dans nos tubes de culture il existe une petite quantité d'héparine mais rien ne permet de trancher entre ces deux mécanismes.

Au total nos résultats demandent confirmation et posent des problèmes physiopathologiques qui pourront peut-être être résolus par d'autres expérimentations.

C O N C L U S I O N S

La dermite des cimentiers est très généralement considérée comme une manifestation d'hypersensibilité retardée. Les réactions épicutanées effectuées avec le bichromate de potassium peuvent montrer que celui-ci peut être en cause et leur positivité au bout de quarante huit heures confirme alors la réaction d'hypersensibilité retardée, le chrome semble pouvoir jouer le rôle d'haptène bien que reste obscure la nature de la protéine à laquelle il se couple et les modalités de cette liaison.

Le rôle des lymphocytes dans l'hypersensibilité retardée est actuellement démontré. Au contact de l'antigène, les lymphocytes subiraient in vivo une transformation blastique qui serait à la base même des mécanismes d'hypersensibilité et ces transformations pourraient être provoquées in vitro dans des cultures de lymphocytes par introduction de l'antigène responsable.

C'est sous cet angle nouveau qu'a été abordée ici l'étude de la dermite des cimentiers : on pouvait s'attendre à une action blastogénique des sels de chrome sur leurs lymphocytes.

Après avoir cultivé à 37°, pendant 96 heures dans un mélange de plasma autologue et de milieu synthétique 199, les lymphocytes de 40 sujets, nous avons obtenu 34 résultats interprétables.

Avec les lymphocytes de 5 cimentiers sur 8 qui avaient un eczéma d'origine professionnelle certaine, 3,5 à 6 % de ces lymphocytes ont subi une transformation blastique en présence d'une solution de bichromate de potassium à la dilution 1/100.000. Nous avons eu aussi 2 résultats positifs sur 3 cultures réussies avec les lymphocytes de sujets sensibilisés aux sels de chrome en dehors de toute dermite du ciment (allergies à l'eau de Javel par exemple).

Par contre avec les lymphocytes de ces 11 sujets sensibilisés le taux de transformation a toujours été inférieur à 0,5 % dans les cultures sans addition de bichromate de potassium.

Il en fut de même après addition de bichromate de potassium aux cultures de lymphocytes des 23 témoins non sensibilisés au chrome : 3 sujets normaux, 4 sujets allergiques à la pénicilline, 3 eczémateux, 3 psoriasiques et 7 maçons indemnes de dermites du ciment, 1 sans aucune lésion cutanée, 3 atteints d'un eczéma infectieux, 2 d'un psoriasis et 1 d'une kératodermie palmo-plantaire d'origine mycosique). Ce dernier ensemble de résultats permet d'éliminer une action blastogénique non spécifique de bichromate de potassium.

Cette étude qui mériterait sans doute d'être poursuivie sur un plus grand nombre de sujets, confirme les travaux de JAEGER et des nombreux auteurs qui ont comme lui invoqué l rôle possible des sels de chrome dans le déterminisme des dermites du ciment.

En fait la technique à utiliser est longue et difficile et malgré son énorme intérêt théorique, elle ne semble guère pouvoir actuellement entrer dans le domaine de la routine pour l'exploration des dermites du ciment, d'autant que, sur le plan pratique, les résultats obtenus n'ont fait que confirmer dans la grande majorité des cas ceux des tests épiciuanés.

B I B L I O G R A H I E

Cette bibliographie n'est pas et ne saurait être exhaustive sur les trois sujets abordés dans cette étude : dermite du ciment, hypersensibilité retardée et culture des lymphocytes. Nous n'avons cité que les principales références.

Pour la dermite du ciment on se reportera aux ouvrages classiques de Dermatologie du Professeur R. DEGOS, du Docteur P. de GRACIANSKY et du Docteur M. BOLGERT (Les eczémas, Monographie Paris, 1965) et aux conclusions du Congrès qui sera réuni cette année sur ce sujet par le Professeur Cl. HURIEZ.

La dernière mise au point sur l'hypersensibilité retardée se trouve dans le British Medical Bulletin 1967, volume 23.

Une bibliographie complète sur la culture des lymphocytes peut être réunie en se référant

- à l'article de ROBBINS J.H. (cité ici)

- à celui de COOPER E.H. et AMIEL J.L. (Cité ici)

- à l'ouvrage de ELVES M.W. : " The lymphocytes " 1966, LLOYD

Lake (Medical Books) LTD London

ASPEGREN (N.) et RORSMAN (H.)

Short terme culture of lymphocytes from guinea -pigs allergic to tuberculin

INT. ARCH. ALLERGY, 1964, 24 : 119

ASTALDI (G.)

Lymphocytes from leukaemic blood cultured with PHA

EUROP J. CANCER 1965, 1 : 259

BAIN (B)

The developpment of large immature mononuclear cells in mixed leucocyte cultures

FEDERAL PROC, 1963, 22 : 428

BECKMAN (L.)

NATURE (London) 1962, 195 : 582

BENDER (M.A.), PRESCOTT (D.M.)

DNA synthesis and mitosis in cultures of human peripheral leucocytes

EXP CELL RES , 1962, 27 : 221

BENEZRA (D.) GERY (I.) DAVIES (A.M.)

Transformation of rabbit lymphocytes by specific antigens

PROC. SOC. EXPER. BIOL. MED. U.S.A. 1967, 125 : 1305

BINET (J.L.) MATHE (G.)

NATURE (Lond) 1962, 193 : 992

BERGMAN (B.)

SCAND. J. HAEMATOL. DENM. 1967, 4, n° 3, 176- 180

BLOOM (W.)

Mammalian lymph in tissue culture, From lymphocyte to fibroblast

ARCH. EXP. ZELLFORSCH, 1928, 5 : 269

BOREK (F.), SILVERSTEIN (A.M.),

Specificity of guinea -pig antibodies and delayed hypersensibility

NATURE, 1965, 205 : 299

BÖRJESON (J.) REISFELD (R.) CHESSIN (L.N.) WELSH (P.D.) DOUGLAS (S.D.)

Studies on human peripheral blood lymphocytes in vitro- I. Biological and physico-chem ; properties of pokeweed mitogen

J. EXPER. MED. 1966, 124 : 859

BRADLEY (J.), OPPENHEIM (J.J.)

The in vitro proliferation of lymphocytes from patients with
hypoagammaglobulinaemia

CLIN EXPER IMMUNOL. G.B., 1967, 2 : 549

BRANDT (L.) BÖRJESON (J.) NORDEN (A.) et OLSSON (I.)

Separation of lymphocytes from peripheral blood by means of a
glass wool column. A method for in vitro culture of lymphocytes

ACTA MED. SCAND., 1962, 172 : 459

BRODY (J.A.)

Human lymphocytes cultured in microplastes

NATURE (London) 1965, 208 : 1232

BRUN (M.R.)

Le rôle du ciment et de certains pigments " insolubles " dans
les eczémas professionnels

REV. LYON. MED., 1966 , n° 16, p 745

BUCKLEY (C.E.) NAGAYA (H.) SIEKER (H.O.)

Annals of Internat Medecine, 1966, 64 : 508

BYRON (J.W.), LAJTHA (L.G.)

Cellular kinetics of a peripheral blood cell system treated with PHA

BLOOD, 1962, 20 : 102

CARON (G.A.)

Lymphocyte transformation induced by different doses of tuberculin
as measured by tritiated thymidine uptake

INT. ARCH. ALLERG. (1966), 30 : 331

CARON(G.A.)

Role of Plasma factors in the transformation of periph. B1. lymph
into lymphoblasts

NATURE (London), 1966, 210 : 314

CARON(G.A.)

Duration of exposure of lymphocytes to antigen in vitro needed to
induce blast transformation

INTERNATION ARCH. ALLERGY APPL IMMUNOL Switz, 1967, 32 : 98

CARON (G.A.)

Spontaneous lymphocytes transformation in vitro negative evidence from
a study of thymidine uptake

BRIT. J. HAEMAT., 1967, 13 : 68

CARSTAIRS (K)

The small lymphocyte : its possible pluripotential quality
LANCET , 1962, 1 : 829

CASSEN (B)

J. LABO CLIN MED , 1958, 52 : 778

CASTELAIN (P.Y.)

Les dermatoses professionnelles
LE GUIDE DU MEDECIN (Juillet Août 1967), n° 14, p. 20

CHALMERS(D.G.)

Immunologically stimulated human peripheral blood lymphocytes in vitro
I. - Morphological changes
INT. ARCH. ALLERGY, 1966, 30 : 83

CHAPMAN (N.D.) et DUTTON (R.W.)

The in vitro stimulation of DNA synthesis in cultures of lymph node
and spleen cell suspension by homologous cells
FEDERATION PROC. , 1964, 23 : 353

CHANIAL (G.)

Tests au chrome et aux ciments chez les cimentiers
LYON MEDICAL 1967, 218 : 315

CHARPY(M.J.)

Le mécanisme physiopathologique de l'eczéma
MASSON, Paris, 1954

COHEN H. A.

On the pathogenesis of contact dermatitis
Sensitization of guinea - pig to potassium bichromate with intradermally
injected heparin
ISRAEL J. MED. SCI, 1966, 2 : 37

COOPER (E.H.), BARKHAN (P) HALE (A.)

Observation on the proliferation of human leucocytes cultured by PHA
BRIT. J. HAEMATOL. , 1963, 9 : 101

COOPER (E.H.) AMIEL (J.L.)

La prolifération des lymphocytes humains " in vitro "
REVUE FR. et CLIN BIOL, 1965, 10 : 469

COOPER (H.L.), RUBIN (A.D.)

RNA synthesis in PHA treated lymphocytes
FEDERATION Proc. 1965, 24 : 304

COULSON (A.S.) and CHALMERS(D.G.)

Separation of viable lymphocytes from human blood
LANCET (1963), 1 : 468

COULSON A.S.

Quantitation of peripheral blood lymphocytes cultures
NATURE (London) 1966, 209 : 378

COWLING (D.G.) QUAGLINO (D) and DAVIDSON (E.)

Changes induced by tuberculin in leucocyte cultures
LANCET, 1963, 2 : 1091

COWLING (D.C.) QUAGLINO (D)

Effect of some antigens on leucocyte cultures
J. PATHOL. BACTERIOL. 1965, 89 : 63

CROWTHER (D) FAIRLEY (G.H.) SEWELL (R.L.)

Lymphoid cells in Hodgkin's disease
NATURE (London) 1967, 215 : 1086

DUTTON (R.W.)

Further studies of the stimulation of DNA synthesis in cultures of spleen cell suspensions by homologous cells in inbred strains of mice and rats
J. EXPL. MED. 1965, 122 : 759

DUTTON (R.W.)

Lymphocyte proliferation in response to homologous tissue Ag
FED. PROC., 1966, 25 : 1723

DUTTON (R.W.)

Significance of the reaction of lymphoid cells to homologous tissue
BACTERIOLOGICAL REVIEWS, 1966, 30 : 397

DORSET (M.) HENLEY (R.R.)

Production of clear and sterilized anti-hog-cholera serum
J. AGRIC. RES. , 1916 , 6 : 333

ELVES (M.W.) ROATH (S.) ISRAELS (M.C.G.)

The response of lymphocytes to antigen challenge in vitro
LANCET, 1963, (a) 1 : 806

ELVES (M.W. ,) ROATH (S) TAYLOR (G.) ISRAELS (M.C.G.)

The in vitro production of antibody lymphocytes
LANCET 1963, (b) i, 1292

ELVES (M.W.), WILKINSON (J.F.)

The effects of PHA on normal and leukaemic leucocytes when cultured
" in vitro "

EXPER. CELL. RES. 1963, 30 : 200

ELVES (M.W.) GOUGH (J.) CHAPMAN (J.) and ISRAELS (M.C.G.)

Electron microscope studies of lymphocyte : transformation under the
influence of PHA

LANCET, 1964, 1 : 306

EPSTEIN (L.B.), STOHLMAN (F. Jr)

RNA synthesis in cultures of normal peripheral blood

BLOOD, 1964, 24 : 69

FESTENTEN

Mouse peripheral blood lymphocytes in culture

THE LANCET, n° du 27/1/ 1968 p; 182

FORBES (I.J.)

Specific and non specific stimulation of antibody synthesis by human
leucocytes in vitro

LANCET, 1965, 1 : 198

FOWLER (I)

Lymphocyte transformation in multiple sclerosis induced by cere-
brospinal fluid

NEW ENG. J. MED., 1966, 275 : 1041

FREY (J.R.) WENK (P)

EXPERIENTIA, 1955, 11 : 494

GOUGH (J.) ELVES (M.W.)

Studies of lymphocytes and their derivatives cells in vitro-I-Bioche-
mical constituents

ACTA HAEMATOLOGICA (Suisse) 1966, 36 : 344

GODDARD (V.R.), MENDEL (L.B.)

Plant hemagglutinating with special reference to a preparation from the
navy bean

J. BIOL. CHEM. 1929, 82 : 447

GOWANS (J.L.) MCGREGOR (O.D.) GOWEN (D.M.) FORD (C.E.)

Initiation of immune responses by small lymphocytes

NATURE, 1962, 196 : 651

GRASBECK (R), NORDMAN (C), de la CHAPELLE (A)

Mitogenic action of antileucocyte immune serum on peripheral
leucocytes in vitro

LANCET, 1963, 2 : 385

GROSFELD (J.C.M.), PENDERS (A.J.M.) de GROOD (R)
and VERNILGHEN (L)

In vitro investigations chromium and nickel hypersensitivity with
culture of skin and peripheral lymph
DERMATOLOGICA (Basel) 1966, 132 : 189

HALPERN (B.) KY (N.T.) AMCHE (N.) LAGRUE (G.) HAZARD (J.)
Diagnostic de l'allergie médicamenteuse "in vitro" par l'utilisation
du test de transformation lymphoblastique (T T L)
LA PRESSE MEDICALE, 1967, 75 : 461

HALPERN (B.), HY (N.T.), LAGRUE (G.) et AMACHE (N.)
Le test aux lymphocytes en allergologie
MEDECINE et HYGIENE, 1967, 763 : 55

HASHEM (N) et BARR (M.L.)
Mitogenic effect of rabbits vaccine on cultures of lymphocytes in
diseases of the nervous system
LANCET, 1963, 2 : 1029

HASHEM (N.) CARR (D.H.)
Mitogenic stimulation of peripheral lymphocyte cultures by autologous
lymphocyte extracts in auto-immune disease
LANCET 1963, 2 : 1030

HASHEM (N.) et ROSEN (F.S.)
Mitogenic fractions in peripheral lymphocyte extracts
LANCET, 1964, 1 : 201

HASHEM (N)
Mitogenic fractions of human skin
PROC. SOC. EXPER. BIOL. MED. 1966, 122 : 1058

HAXTHAUSEN H.
Pathogenesis of allergic eczema elucidated by transplantation
experiments on identical twins
ACTA DERM. VENER., 1943, 23 : 438

HAXTHAUSEN H.
Acta Dermat Vener. 1947, 27 : 275

HAXTHAUSEN H.
Acta Dermat Vener 1951, 31 : 659

HEILMAN (D.N.)

Inhibition of tuberculin induced mitogenesis in cultures of lymphocytes from tuberculous donors

INT. ARCH. ALLERGY, 1966, 30 : 58

HELLSTROM (K.E.) MOLLER(G.)

Immunological and immunogenetic aspects of tumor transplantation

PROGR. ALLERGY, 1965 , 9 : 158

HIRSCHHORN (K) KOLODNY (R. L.) HASHEM (N) et BACH(F.)

Failure of cultured lymphocytes of patients with acute rheumatic fever to respond to streptolysin S

J. CLIN. INVEST. 1964, 43 : 1273

HIRSCHHORN (K) BACH(F.H.) RAPAPORT (F) CONVERSE (J)

LAWRENCE (H)

The relation ship of in vitro lymphocyte compatibility to homograft sensitivity in man

ANN. N.Y. ACAD. SCI. 1964, 120 : 303

HOLLAND (P) MAUER (A.M.)

Drug induced in vitro stimulation of peripheral leucocytes

LANCET, 1964, 1 : 368

HUNGERFORD (D.A.) DONNELLY (A.J.) NOWELL (P.C.) et BECK (S.)

The chromosome constitution of a human phenotypic intersex

AMER. J. HUMAN GENET. 1959, 11 : 215

INMAN (D. R.) COOPER(E.H.)

Electron microscopy of human lymphocytes stimulated by PHA

J. CELL. BIOL. 1963, 19 : 441

JOHNSON (G.J.) RUSSELL (P.S.)

Reaction of human lymphocytes in culture to components of the medium

NATURE, (London) 1965, 208 : 343

JAEGER (H) PELLONI (E.)

DERMATOLOGICA , 1950, 100 : 207

- KY (N.T.) HALPERN (B.N.) LAGRUE (G.) et LANGLOIS (C)
La transformation lymphoblastique in vitro des lymphocytes sanguins
appliqués à l'allergie microbienne
LA PRESSE MED. 1966, 74 : 1119
- KOLODNY (R.L.) HIRSCHHORN (K)
Properties of PHA
NATURE (London) 1964, 201 : 715
- KNIGHT (S) LING (N.R.) SELL (S) OXNARD (C.E.)
The transformation in vitro of peripheral lymphocytes of
some laboratory animals
IMMUNOLOGY, 1965, 9 : 565
- LANDSTEINER (K) CHASE (W.M.)
J. EXPER. MED. 1940, 71 : 237
- LANDSTEINER (K) CHASE (W.M.)
PROC. BIOL. EXP. BIOL. MED. 1942, 49 : 688
- LEVENTHAL (B.G.) WALDORF (D.S.) TALAL (N)
Impaired lymphocyte transformation and delayed hypersensitivity
in Sjögren's syndrome
J. CLIN. INVEST. 1967, 46 : 1338
- LEVINE (S.)
SCIENCE, 1956, 123 : 185
- LI (J.G.) OSGOOD (E.E.)
A method for the rapid separation of lymphocytes and nucleated erythro-
cytes from blood or marrow with a PHA from red beans (Phaseolus
vulgaris
BLOOD, 1949, 4 : 670
- LINDHAL - KIESSLING (K) BOOK (J.A.)
Effects of thalidomide on human leucocytes cultures
LANCET, 1963, 2 : 405
- LING (N.R.) HUSBAND (E.H.)
Specific and non-specific stimulation of peripheral lymphocytes
LANCET , 1964, 1 : 363
- LING (N.R.) SPICER (E.) JAMES (K.) and WILLIAMSON (N.)
The activation of human peripheral lymphocytes by products of
staphylococci
BRIT. J. HAEMAT., 1965, 11 : 421

LYCETTE (R.R.) and PEARMAIN (G.E.)

Further observations on antigen - induced mitosis
LANCET, 1963, 2 : 386

MAXIMOW (A)

Development of nongranular leucocytes (lymphocytes and monocytes)
into polyblasts (macrophages) and fibroblasts in vitro
PROC. SOC. EXPER. BIOL. N.Y., 1927 , 24 : 570

MACKINNEY (A.A.) STOHLMAN (F) BRECHER (G.)

The kinetics of cell proliferation in cultures of human peripheral
blood
BLOOD (1962, 19 : 349

MARSHALL (W.H.) ROBERTS (K.B.)

Tuberculin induced mitosis in peripheral blood leucocytes
LANCET, 1963, 1 : 773

MATHE (G.) BINET (J.L.) SEMAN (G.) AMIEL (J.L.) et DAGUET (G)

Cellules immunologiquement compétentes
C N R S Ed. paris, 1963

MELLMAN (W.J.)

Blastogenesis in peripheral blood lympho in response to PHA and
Antigen
FED. PROC. 1966, 25 : 1720

MERKLEN (F-P.) MIKOL (C) COTTENOT (F.) RENOUX (M)

Caractérisations immunologiques dans les eczémas allergiques
BULL. MEM. SOC. MED. HOP. PARIS, 1966, 117 : 739

MILLS (J.A.)

The immunologic significance of antigen induced lymphocytes transfor-
mation " in vitro " .
J. IMMUNOL. 1966, 97 : 239

MYAMOTO (T)

Antibody production in vitro by chicken peripheral lymphocytes
JAP. J. EXP. MED. 1966, 36 : 121

MOORE (G.E.)

Culture of normal human leucocytes
J.A. M.A., 1967, 199 : 519

MOORHEAD (P.S.) NOWELL (P.C.) MELLMAN (W.J.) BATTIPS (D.M)
et HUNGERFORD (D.A.)

Chromosome preparations of leucocytes cultured from human peripheral
blood

EXPER. CELL. RES. 1960, 20 : 613

NOWELL (P.C.)

PHA : an initiator of Mitosis in cultures of normal human leucocytes
CANCER RES. , 1960, 20 : 462

NOVI (C)

Modifications induced in vitro by antigens on the lymphocytes of
pollinosis patients

FOLIA ALLERG. (Roma) 1966, 13 : 65

OETTGEN (H.F.)

Stimulation of human tonsillar lymphocytes in vitro

CLIN. EXP. IMMUNOL. 1966, 1 : 77

OORT (J) et TURK (J.L.)

A histological and autoradiographic study of lymph nodes during the
development of contact sensitivity in the guinea-pig

BRIT. J. EXPER. PATH. 1965, 46 : 147

OPPENHEIM (J.J.)

Impaired in vitro lymphocytes transformation in patients with ataxia-
telangiectasis

BRIT. MED. J. 1966, 2 : 330

OPPENHEIM (J.J.) WOLFF (S.M.)

Cellular localisation of carbon-14 and otoxin in cultured leucocytes

NATURE (London) 1966, 211 : 767

OPPENHEIM (J.J.)

Delayed hypersensitivity in the guinea-pig to a protein hapten-conjugate
and its relationship to in vitro transformation of lymph node, spleen,
thymus and peripheral blood lymphocytes

IMMUNOLOGY, 1967, 12 : 89

OHNUKI (T) AWA (A) and POMERAT (C.M.)

A comparative study of human and monkey leucocytes in culture

Technical Documentary report n° Sam. Tdr 62 - 99, 1962

OSGOOD (E.E.) et KRIPPAEHNE (M.L.)

The gradient tissue culture method

EXPER. CELL. RESEARCH, 1955, 9 : 116

PARKHOUSE (R. M. E.) DUTTON (R. W.)

Medium requirements and culture conditions for the antigen dependant
DNA synthesis of spleen cells in vitro
FEDERATION PROC., 1964, 23 : 389

PASSALEVA (A.) RICCI (M.) RICCA (M.) URCIUOLO (O.)

Studi sul comportamento di colture linfocitaeis di soggetti néoplastici
sotto stimolo fitoemogglutinice
FOLIA ALLERGOL. ITAL. 1966, 13 : 7

PATRUCCO (A.)

The response of cultured lymphocytes from patients with systemic
lupus erythromatosus to DNA
ARTHRITIS RHEUMA. 1967, 10 : 32

PERMAIN (G.) LYCETTE (R. R.) FITZGERALD (P. H.)

Tuberculin induced mitosis in peripheral blood leucocytes
LANCET, 1963 , 1 : 637

PIRILÄ et KILPIÖ

On dermatoses caused by bichromates
ACTA DERMATO- VENEREOL 1949, 39 : 550

RICCI (M.)

Considerations on the action of PHA, tuberculin antigens and
Kveim's antigen on lymphocyte cultures of patients with sarcoidosis
and Hodgkin's Disease
FOLIA ALLERG. (Roma) 1966, 13 : 11

RIPPS (C S) FELLNER (M J)

LANCET, 1966, 2 : 803

ROBBINS (J M)

Tissue culture studies of the human leucocyte
SCIENCE, 1964, 146 : 1648

ROBINSON (E.)

In vitro studies of lymphocytes from cancer patients
ISRAEL J. MED. SCI. 1966, 2 : 80

ROITT (I. M.) DONIACH (D.)

Delayed hypersensitivity in auto-immune disease
BR. MED. BULL. 1967, 23 : 66

SABESIN (S.M.) MAGLIO (M.T.) ISSELBACHER (K.J.)

Effect of PHA on rabbit peripheral lymphocytes
FEDERATION PROC., 1965, 25 : 304

SANDERS (P.C.) and HUMASON (G.L.)

Culture and slide preparations of leucocytes from the blood of
Macaca
STAIN TECHNOL. 1964, 39 : 209

SARKANY (I)

Lymphocytes transformation in drug hypersensitivity
LANCET, 1967, 1 : 743

SASAKI (M.S.) NORMAN (A)

Proliferation of human lymphocytes in culture
NATURE, 1966, 210 : 913

SCHREK (R) DONNELLY (W.J.)

Difference between lymphocytes of leukemic and ^{non}leukemic patients
with respect to morphologic features, motility and sensitivity to
guinea - pig
BLOOD, 1961, 18 : 561

SCHREK (R)

Cell transformations and mitosis produced in vitro by tuberculin
purified protein derivative (PPD) in human blood cells
AM. REV. RESPIRAT. DISEASE, 1963, 87 : 734

SCHREK (R) RABINOWITZ (T)

Effects PHA on rat and normal and leukemic human blood cells
PROC. SOC. EXP. BIOL. MED., 1963, 113 : 191

SCHREK (R)

In vitro homograft reactions between blood cells of two individuals
AM. J. PATHOL. 1964, 44 : 43

SELL (S)

Studies on rabbit lymphocytes in vitro
V- The induction of blast transformation with sheep antisera to rabbit
IgG subunits
J. EXPER. MED., 1967, 125 : 289

SHARMAN (C)

Lymphocyte number and response to PHA in chronic lymphocyte
leukaemia
SCAND. J. HAEMATOL. 1966, 3 : 375

SOMOGYI (S)

A propos de la démonstration de la sensibilité au Cr par l'IDR
et les tests thrombocytaires

HAUTARZ DTSCH, 1966, 17 : 415

STRAUS et COCA

J. IMMUNOL. 1937, 33 : 215

TAO (T.W.)

PHA elicitation of specific anamnestic immune response in vitro
SCIENCE, 1964, 146 : 247

TROWELL (O.A.)

The lymphocyte

INT. REV. CYTOL. 1958, 7 : 285

TURK (J.L.)

Lymphocyte response to antigen

TRANSPLANTATION, 1967, 5 : 952

VISCHER (T.L.)

LANCET, 1966, 2 : 467

VIZA (D.C.)

Study of the lymphocyte fractions in the mixed lymphocyte culture
in vitro

EXPERIENTIA (Suisse) 1967, 23 : 848

ZAVALETA (A) STASNY (P)

Immunological memory to an autoantigen: the in vitro response
to thyroglobulin

CLIN. EXPER. IMMUNOL. (G.B.) 1967, 2 : 543

ZEITZ (S.J.)

Specific response of human lymphocytes to pollen antigen in tissue
culture

J. ALLERGY, 1966, 38 : 321

ZWEIMAN (B) BESDINE (R.W.) HILDRETH (E.A.)

Mitotic response induced in sensitive guinea-pigs by tuberculin
NATURE (Lond) 1966, 212 : 422

P L A N

	Pages
INTRODUCTION	1
I- DE LA DERMITE DU CIMENT CONSIDEREE COMME UNE DERMITE DE CONTACT AUX SELS DE CHROME	3
II- ROLE DU LYMPHOCYTE DANS LA DERMITE DE CONTACT	6
Induction de la sensibilisation	8
Manifestation de l'hypersensibilité	10
III - LA CULTURE DES LYMPHOCYTES IN VITRO	13
• Historique	14
• Effet blastogénique de la PHA	16
- Séparation des lymphocytes	16
- Problèmes de lecture	18
- Résultats stimulation par PHA	19
- Mécanisme d'action de la PHA	21
• Action blastogénique des Antigènes	23
- Tuberculine	23
- Allergie microbienne	23
- Allergie aux pollens	25
- Maladies auto-immunes	25
- Histocompatibilité	25
• Signification de la transformation lymphoblastique	26
- Les immunoblastes proviennent-ils des petits lymphocytes ?	26
- Caractéristiques des immunoblastes	28
- Transformation lymphoblastique, Réaction immunologique ?	29
IV- LA CULTURE DES LYMPHOCYTES DANS LA DER MITE DU CIMENT	32
- Technique	33
- Résultats	39
CONCLUSIONS	46

Vu : Le président de la Thèse

Professeur F.P. MERKLEN

Vu : le Doyen de la Faculté de
MEDECINE de Paris

Professeur G. BROUET

Vu et permis d'imprimer

Le Recteur de l'Académie de Paris

J. ROCHE

